苜蓿皂苷对断奶仔猪生长性能、肠道菌群、组织抗氧化能力及相关酶 mRNA 表达的影响

王文静　刘伯帅　陈要鹏　孙　骁　肖俊楠　林锦翔　王成章　史莹华*

（河南农业大学牧医工程学院，郑州 450002）

摘　要：本试验旨在研究苜蓿皂苷对断奶仔猪生长性能、肠道菌群、组织抗氧化能力及相关酶 mRNA 表达的影响。选取 24 头平均体重为 8 kg 的大×长杂交断奶仔猪，随机分为 2 组，每组 3 个重复，每个重复 4 头猪。对照组饲喂基础饲粮，苜蓿皂苷组饲喂在基础饲粮中添加 0.25%苜蓿皂苷的饲粮。预试期 10 d，正试期 30 d。结果表明：1）与对照组相比，饲粮中添加苜蓿皂苷可显著提高断奶仔猪平均日增重（P<0.05），并显著降低料重比（P<0.05）。2）与对照组相比，饲粮中添加苜蓿皂苷可显著降低仔猪十二指肠和盲肠的 pH(P<0.05)，显著提高十二指肠、空肠和回肠中乳酸菌数量（P<0.05）。3）与对照组相比，饲粮中添加苜蓿皂苷可显著提高仔猪肝脏和肾脏中谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）和过氧化氢酶（CAT）活性（P<0.05），并显著提高仔猪肝脏和空肠中 *GSH-Px* mRNA 表达量及十二指肠和回肠中 *CAT* mRNA 表达量(P<0.05)。综上，苜蓿皂苷可以提高断奶仔猪生长性能，增强其组织抗氧化能力并有效改善其肠道菌群。

关键词：苜蓿皂苷；断奶仔猪；生长性能；肠道菌群；抗氧化能力；mRNA 表达量

中图分类号：S816.7

紫花苜蓿作为世界上种植范围最广、种植历史悠久的牧草主要具有以下优点：富含蛋白质、矿物质和维生素，并且蛋白质品质较好、氨基酸组成平衡、赖氨酸含量较高。丰富的苜蓿资源包含着很多潜在的活性成分，比如皂苷、黄酮和多糖等物质，而皂苷作为一种天然的有独特生物学活性的物质，研究表明，其具有抗氧化、免疫调节、抗癌以及降血脂等功能。因此，苜蓿皂苷引起了人们的广泛关注。武志敏等[1]研究了不同添加量的甜菜碱和苜蓿皂苷对断奶仔猪生长性能的影响，结果表明甜菜碱和苜蓿皂苷对断奶仔猪的平均日增重（ADG）、平均日采食量（ADFI）和料重比（F/G）均有显著影响，且饲粮中添加 0.08%甜菜碱与 0.25%苜蓿皂苷时效果最佳。Yalinkilic 等[2]用含有皂苷的七叶树(*Aesculus hippocastanum*)、菠菜(*Spinacia oleracea*)和紫花苜蓿提取液来饲喂小鼠，发现它们可以显著提高机体抗氧化能力，保护细胞免受 X 射线的伤害。但是长期以来人们对苜蓿的研究大多集中于青干草、草粉等草产品的营养价值和加工利用方面，其利用也主要以奶牛饲喂为主，而苜蓿皂苷在仔猪饲粮中研究较少。因此，本试验旨在研究苜蓿皂苷对断奶仔猪生长性能、肠道菌群、组织抗氧化能力和相关酶 mRNA 表达的影响，以期为其在实际生产中的合理应用提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　试验材料

本试验所用苜蓿皂苷由河北宝恩生物技术有限责任公司提供，其中皂苷含量为 62.00%、类黄酮含量为 10.97%、多糖含量为 8.12%、水分含量为 7.11%、未知因子含量为 11.80%。皂苷多具有吸湿性、味苦、刺激黏膜的特性，一般可溶于水，易溶于热水、热甲醇及热乙醇，不溶于乙醚等极性小的有机溶剂，大多数甾体皂苷属于中性皂苷，多数三萜皂苷属于酸性皂苷。而本产品皂苷呈中性，pH 为 7.04。

1.2 试验设计与试验饲粮

采用单因子完全随机设计，按照日龄、胎次、体重尽可能一致的原则，选取健康、体重约 8.0 kg 的大×长二元杂交仔猪 24 头作为试验动物，随机分为 2 组，每组 3 个重复，每个重复 4 头猪。对照组饲喂基础饲粮，苜蓿皂苷组在对照组饲粮的基础上添加 0.25%的苜蓿皂苷。基础饲粮组成及营养水平见表 1

表 1 基础饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis) %

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
小麦 Wheat	72.0
豆粕 Soybean meal	13.0
油脂 Oil and fat	4.0
鱼粉 Fish meal	5.0
乳清粉 Whey powder	3.0
石粉 Limestone	0.7
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	0.3
食盐 NaCl	0.3
赖氨酸 Lys	0.6
苏氨酸 Thr	0.1
预混料 Premix[1)]	1.0
合计 Total	100.0
营养水平 Nutrient levels[2)]	
粗蛋白质 CP	19.67
消化能 DE/(MJ/kg)	14.55
钙 Ca	0.78
磷 P	0.60
赖氨酸 Lys	1.29
蛋氨酸＋半胱氨酸 Met+Cys	0.62
苏氨酸 Thr	0.67

[1)] 预混料为每千克饲粮提供 Premix provided the following per kg of diet：VA 5 500 IU，VD_3 500 IU，VE 66.1 IU，VB_{12} 28.2 μg，VB_2 5.1 mg，VB_3 12.6 mg，VB_5 29.8 mg，胆碱 choline 540 mg，Mn 40 mg，Zn 120 mg，Fe 130 mg，Cu 150 mg，Co 1 mg，Se 0.25 mg，I 4.5 mg。

2) 营养水平为计算值。Nutrient levels were calculated values.

1.3 饲养条件与饲养管理

试验预试期 10 d，正试期 30 d。试验猪自由采食和饮水，每天饲喂 4 次，饲喂时间定在每天 06:00、10:00、14:00 和 18:00。预试期间各组饲喂相同的基础饲粮，正试期间对照组与苜蓿皂苷组分别饲喂基础饲粮与试验饲粮，并做好每天采食量和健康状况的记录。猪舍温度控制在 25 ℃左右，湿度在 65%～75%，每天清扫 1 次圈舍并按照猪场常规免疫规程进行免疫与消毒。试验结束时，禁食(自由饮水)12 h 后称量仔猪体重，计算各组 ADFI、ADG 及 F/G。

腹泻率(%)=100×[(每天腹泻头数×腹泻天数)/(试验猪头数×试验天数)]。

1.4 样品采集

分别各选取对照组和苜蓿皂苷组仔猪 6 头(每个重复 2 头)进行颈静脉放血致死，随后剖开腹腔，分离肠道(取相同部位十二指肠、空肠、回肠和盲肠并结扎各个肠段)收集内容物，一部分进行微生物测定（大肠杆菌和乳酸菌)，另一部分进行 pH 测定。随后在仔猪的肝脏、脾脏和肾脏同一部位采样，并截取其十二指肠、空肠、回肠和盲肠。先用生理盐水冲洗，再用干纱布蘸干水分，记录后用锡箔纸包扎，立即放入液氮速冻，转移至－80 ℃冰箱保存。

1.5 指标测定

1.5.1 pH 的测定

采用 pH 仪直接测定十二指肠、空肠、回肠和盲肠内容物的 pH。

1.5.2 肠道中大肠杆菌和乳酸菌的测定

肠道内容物稀释液的制备：将采集的肠道内容物混匀后，在无菌条件下取 0.5 g，放于盛有 4.5 mL 无菌生理盐水的 l 号试管中，随后在漩涡振荡器上振荡 20 min，另准备灭菌过的试管 5 只，每支试管盛有无菌生理盐水 4.5 mL，然后从 l 号试管取 0.5 mL 加入 2 号试管振荡 5 min，依次稀释到 10^{-6}。

大肠杆菌和乳酸菌的接种与培养：大肠杆菌和乳酸菌分别采用伊红美蓝（EMB）和 MRS 培养基平板进行培养，采用菌落记数法进行统计。选择 3 个合适的稀释度，并各设置 2 个重复。从高稀释度开始，在酒精灯附近进行操作，用移液枪吸取 100 μL 混匀的稀释液在各选择性培养基上方 2～3 cm 处滴下，并用曲玻棒推匀。大肠杆菌置于 37 ℃生化培养箱中培养 24 h 后进行菌落记数。乳酸菌放在二氧化碳（CO_2）生化培养箱中 37 ℃厌氧培养 48 h 后进行菌落记数。计算出每克样品所含菌数，用 lg（CFU/g）表示每克肠道内容物中细菌数量。

1.5.3 组织抗氧化能力的测定

称取肝脏、肾脏和脾脏 0.3~0.5 g，放入小烧杯(置于冰水浴中)。用移液枪吸取事先预冷好的 0.9%生理盐水，使组织和生理盐水的比为 1∶9（质量体积比），用剪刀快速剪碎组织块，之后放于玻璃匀浆器中，在装有冰水混合物的容器中研磨 6~10 min，使所取样本充分匀浆化。将制备好的组织匀浆在 3 500 r/min 离心

15 min，小心吸取上清液分装，随后放于低温冰箱中。最后按照南京建成生物工程研究所说明书测定组织中超氧化物歧化酶（SOD）活性、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）活性、过氧化氢酶（CAT）活性、总抗氧化能力（T-AOC）和丙二醛（MDA）含量。

1.6　肝脏、十二指肠、空肠和回肠中 *SOD*、*GSH-Px* 及 *CAT* mRNA 表达的测定

1.6.1　引物设计

以 GeneBank 中猪 *SOD*、*GSH-Px*、*CAT* DNA 序列作为模板，以磷酸甘油醛脱氢酶（*GAPDH*）作为内参基因，运用 Primer 5.0 设计引物。设计好的引物交由生工生物工程（上海）股份有限公司合成。引物干粉在使用前先 12 000 r/min 离心 1 min，然后再按照管上标明比例加入 ddH_2O，稀释成浓度为 100 μmol/L 的工作液，置于－20 ℃保存。引物序列及参数见表 2。

表 2　引物序列及参数

Table 2　Sequences and parameters of primers

基因 Genes	GenBank 登录号 GenBank accession No.	序列 Sequences (5′—3′)
磷酸甘油醛脱氢酶 *GAPDH*	NM_001206359.1	F:GTCGGTTGTGGATCTGACCT R:AGCTTGACGAAGTGGTCGTT
超氧化物歧化酶 *SOD*	NM_001190422.1	F:GAGACCTGGGCAATGTGACT R:CCAAACGACTTCCAGCATTT
谷胱甘肽过氧化物酶 *GSH-Px*	NM_214201.1	F:AGAAGTGTGAGGTGAATGGC R:CCCGAGAGTAGCACTGTAAC
过氧化氢酶 *CAT*	NM_214301.2	F:GAGCACGTTGGAAAGAGGAC R:GGCTGTGGATAAAGGATGGA

1.6.2　总 RNA 的抽提与检测

取适量的组织经液氮研磨后，用 Trizol 法抽提总 RNA 并测定 RNA 样品的浓度和纯度，所有样品吸光度比值在 1.8~2.0，说明其纯度满足分子生物学实验的要求。将上述总 RNA 进行反转录，反应采用 10 μL 体系，反转录产物于－20 ℃保存备用。

1.6.3　RT-PCR 扩增

SOD、*GSH-Px* 和 *CAT* mRNA 表达分析采用 RT-PCR 荧光染料法测定，配制 20 μL 体系，具体操作参见试剂盒说明书，每个样品 3 个重复。循环条件：95 ℃预变性 60 s，95 ℃变性 10 s，58 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 20 s，40 个循环。以内参基因 *GAPDH* 表达量为参比，目的基因相对表达量以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法表示。

1.7 数据处理

试验数据采用 SPSS 19.0 统计软件进行 *T* 检验分析，以 $P<0.05$ 表示差异显著，结果用"平均数±标准差"方式表示。

2 结果与分析

2.1 苜蓿皂苷对断奶仔猪生长性能及腹泻率的影响

由表 3 可知，饲粮中添加苜蓿皂苷提高了断奶仔猪的 ADFI，降低了腹泻率，但差异不显著（$P>0.05$）；苜蓿皂苷组较对照组 ADG 显著提高（$P<0.05$），F/G 显著降低（$P<0.05$）。

表 3 苜蓿皂苷对断奶仔猪生长性能及腹泻率的影响

Table 3 Effects of alfalfa saponin on growth performance and diarrhea rate of weaned piglets

项目 Items	对照组 Control group	苜蓿皂苷组 Alfalfa saponin group
平均日增重 ADG/g	$492.97±22.54^{b}$	$545.92±13.71^{a}$
平均日采食量 ADFI/g	769.24±46.06	803.95±33.82
料重比 F/G	$1.56±0.04^{a}$	$1.47±0.02^{b}$
腹泻率 Diarrhea rate/%	9.62±6.53	3.06±1.92

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)，下表同。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$). The same as below.

2.2 苜蓿皂苷对断奶仔猪肠道 pH 及菌群的影响

由表 4 可知，饲粮中添加苜蓿皂苷显著降低了仔猪十二指肠和盲肠的 pH($P<0.05$)，对仔猪空肠和回肠的 pH 没有显著影响($P>0.05$)；饲粮中添加苜蓿皂苷降低了仔猪十二指肠、空肠、回肠和盲肠中的大肠杆菌数，但差异不显著（$P>0.05$）；与对照组相比，苜蓿皂苷组仔猪十二指肠、空肠和回肠中乳酸菌数均显著增加（$P<0.05$），盲肠中该菌数有所增加，但差异不显著（$P>0.05$）。

表 4 苜蓿皂甙对断奶仔猪肠道 pH 及菌群的影响

Table 4 Effects of alfalfa saponin on intestinal pH and microflora of weaned piglets

项目 Items	对照组 Control group	苜蓿皂苷组 Alfalfa saponin group
pH		
十二指肠 Duodenum	$6.05±0.04^{b}$	$5.93±0.04^{a}$
空肠 Jejunum	6.49±0.11	6.36±0.19
回肠 Ileum	6.48±0.10	6.62±0.16
盲肠 Cecum	$6.58±0.12^{b}$	$5.97±0.29^{a}$

大肠杆菌 *Escherichia coli*/[lg(CFU/g)]		
十二指肠 Duodenum	7.15±0.64	6.41±0.58
空肠 Jejunum	7.24±0.72	6.36±0.79
回肠 Ileum	7.36±0.51	6.66±0.29
盲肠 Cecum	6.37±0.43	6.28±0.91
乳酸菌 *Lactobacillus*/[lg(CFU/g)]		
十二指肠 Duodenum	8.39±0.12[b]	8.87±0.09[a]
空肠 Jejunum	8.46±0.19[b]	8.94±0.05[a]
回肠 Ileum	8.43±0.07[b]	8.92±0.06[a]
盲肠 Cecum	8.43±0.34	8.79±0.16

2.3 苜蓿皂苷对断奶仔猪组织抗氧化能力的影响

由表 5 可知，饲粮中添加苜蓿皂苷降低了仔猪肝脏、肾脏和脾脏中 MDA 的含量，提高了 SOD 活性和 T-AOC，但差异不显著（*P*>0.05）；与对照组相比，苜蓿皂苷组仔猪肝脏和肾脏中 GSH-Px 活性显著提高（*P*<0.05），脾脏中 GSH-Px 活性有所降低，但差异不显著（*P*>0.05）；苜蓿皂苷组仔猪肝脏、肾脏和脾脏中 CAT 活性均高于对照组，其中肝脏和肾脏中 CAT 活性显著提高（*P*<0.05）。

表 5　苜蓿皂苷对断奶仔猪组织抗氧化能力的影响

Table 5　Effects of alfalfa saponin on antioxidant ability in tissues of weaned piglets

项目 Items	对照组 Control group	苜蓿皂苷组 Alfalfa saponin group
肝脏 Liver		
丙二醛 MDA/(nmol/mg prot)	3.17±0.53	3.02±0.49
超氧化物歧化酶 SOD/(U/mg prot)	138.28±5.21	147.70±14.21
谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px/(U/mg prot)	79.71±8.65[b]	102.25±4.38[a]
过氧化氢酶 CAT/(U/mg prot)	658.23±44.55[b]	863.02±53.29[a]
总抗氧化能力 T-AOC/(U/mg prot)	3.59±0.01	3.82±0.57
肾脏 Kidney		
丙二醛 MDA/(nmol/mg prot)	1.80±0.13	1.62±0.34
超氧化物歧化酶 SOD/(U/mg prot)	166.44±9.60	175.09±16.01
谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px/(U/mg prot)	96.39±7.36[b]	128.12±9.45[a]

过氧化氢酶 CAT/(U/mg prot)	441.63±50.43[b]	658.42±31.20[a]
总抗氧化能力 T-AOC/(U/mg prot)	2.66±0.47	2.82±0.33
脾脏 Spleen		
丙二醛 MDA/(nmol/mg prot)	2.00±0.10	1.94±0.27
超氧化物歧化酶 SOD/(U/mg prot)	23.03±12.02	43.76±23.34
谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px/(U/mg prot)	38.23±9.90	37.10±1.26
过氧化氢酶 CAT/(U/mg prot)	36.38±15.62	44.96±8.06
总抗氧化能力 T-AOC/(U/mg prot)	0.28±0.05	0.29±0.01

2.4 苜蓿皂苷对断奶仔猪组织中 *SOD*、*GSH-Px* 和 *CAT* mRNA 表达的影响

由表 6 可知，饲粮中添加苜蓿皂苷对仔猪肝脏、十二指肠、空肠和回肠中 *SOD* mRNA 的表达量没有显著影响(P>0.05)；饲粮中添加苜蓿皂苷显著提高了仔猪肝脏和空肠中 *GSH-Px* mRNA 的表达量（P<0.05），而对十二指肠和回肠中此基因的表达无显著影响（P>0.05）；与对照组相比，苜蓿皂苷组仔猪十二指肠和回肠中 *CAT* mRNA 的表达量显著提高（P<0.05），肝脏和空肠中 *CAT* mRNA 的表达量有提高趋势（P>0.05）。

表 6 苜蓿皂苷对断奶仔猪组织中 *SOD*、*GSH-Px* 和 *CAT* mRNA 表达的影响

Table 6 Effects of alfalfa saponin on mRNA expression of *SOD*, *GSH-Px* and *CAT* in tissues of weaned piglets

项目 Items	对照组 Control group	苜蓿皂苷组 Alfalfa saponin group
肝脏 Liver		
超氧化物歧化酶 *SOD*	1.00±0.27	1.08±0.23
谷胱甘肽过氧化物酶 *GSH-Px*	1.00±0.03[b]	1.07±0.02[a]
过氧化氢酶 *CAT*	1.00±0.16	1.22±0.16
十二指肠 Duodenum		
超氧化物歧化酶 *SOD*	1.00±0.14	1.01±0.18
谷胱甘肽过氧化物酶 *GSH-Px*	1.00±0.34	1.03±0.07
过氧化氢酶 *CAT*	1.00±0.01[b]	1.50±0.16[a]
空肠 Jejunum		
超氧化物歧化酶 *SOD*	1.00±0.16	0.97±0.19
谷胱甘肽过氧化物酶 *GSH-Px*	1.00±0.05[b]	1.50±0.05[a]
过氧化氢酶 *CAT*	1.00±0.15	1.13±0.30

回肠 Ileum		
超氧化物歧化酶 *SOD*	1.00±0.06	1.01±0.13
谷胱甘肽过氧化物酶 *GSH-Px*	1.00±0.26	0.97±0.16
过氧化氢酶 *CAT*	1.00±0.04[b]	1.34±0.09[a]

3 讨 论

3.1 苜蓿皂苷对断奶仔猪生长性能及腹泻率的影响

多年来关于苜蓿皂苷对家畜生长性能研究的结果不完全一致，这可能是由于动物种类、生理状况以及苜蓿皂苷提取部位的不同导致的。徐兵[3]研究表明饲粮中添加苜蓿皂苷可提高断奶仔猪 ADFI 和 ADG。曹亚男[4]研究了紫花苜蓿草粉对仔猪生长性能的影响，结果表明试验组仔猪的 ADG 高于对照组。侯永刚等[5]在蛋鸡饲粮中添加 30、60 和 90 mg/kg 的苜蓿皂苷后发现，蛋鸡的产蛋率及蛋重均高于对照组，F/G 也有一定程度的降低。王彦华等[6]研究表明，一定比例的苜蓿皂苷添加量(0.25%~0.50%)可以提高仔猪的生长性能。本试验结果显示，饲粮中添加苜蓿皂苷提高了断奶仔猪的 ADFI，降低了腹泻率；苜蓿皂苷组较对照组 ADG 显著提高，F/G 显著降低。说明饲粮中加入适量苜蓿皂苷可以提高断奶仔猪的生长性能，降低其腹泻率。

3.2 苜蓿皂苷对断奶仔猪肠道 pH 及菌群的影响

动物肠道内的 pH 是影响微生物生存繁衍的重要因素，也是维持消化酶分泌及活性的主要因子，因此稳定、适宜的肠道 pH 是维持消化道健康、保证其正常发挥消化吸收功能的重要因素之一。有研究报道称，断奶仔猪肠道 pH 偏高，不仅会对小肠段消化酶的活性产生不利影响，且易导致病原菌的大量增殖，最终引起仔猪腹泻的发生。Lupton 等[7]和 Kashiwagura 等[8]报道，pH 能影响细胞的发育，胞内 pH 的改变能诱导其分裂，进而促进 DNA 的生成，较低的 pH 有利于保持肠黏膜完整的形态结构并促进黏膜细胞的增殖。在本试验中，苜蓿皂苷显著降低了仔猪十二指肠和盲肠 pH。这可能是由于苜蓿皂苷促进了仔猪肠道中胃酸和消化液的分泌，而使 pH 降低；也可能是由于苜蓿皂苷对肠道乳酸菌具有较高的增强作用，而导致肠道 pH 的降低。

动物肠道的微生态系统能否达到一个均衡的状态，将在很大程度上影响到肠道正常生理及整个机体的新陈代谢。肠道中大肠杆菌数量的减少可以降低仔猪腹泻和其他胃肠道疾病的发生[9]。乳酸菌等有益菌可通过其代谢产物及分泌的一些抗菌活性物，在机体抵挡病原菌侵袭的防御系统中发挥作用[10]。有研究报道称植物皂苷类成分具有抑菌活性[11-12]。金秋等[13]研究称无患子总皂苷对大肠杆菌具有很强的抑菌活性。蔷薇根总皂苷对大肠杆菌也有不同程度的抑制作用[14]。曾有研究显示五环三萜类柴胡皂苷单体 Bp3 对白念珠菌氟康唑耐药株有不同程度的抑菌作用[15]。李波等[16]研究表明经苜蓿皂苷提取液处理后，大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的生长均会受到一定的抑制。武志敏[17]研究了在断奶仔猪饲粮中添加一定量的苜蓿皂苷，结果表明

在肠道微生物方面，与对照组相比，苜蓿皂苷对大肠杆菌有显著的抑制作用，对沙门杆菌也有一定的抑制作用，在一定程度上降低了仔猪腹泻率。本试验结果表明，苜蓿皂苷对仔猪肠道大肠杆菌有轻微抑制增殖的作用，对肠道乳酸菌则有一定的促进增长的作用，说明苜蓿皂苷可能具有维持肠道微生态平衡的作用。

3.3 苜蓿皂苷对断奶仔猪组织抗氧化能力及相关酶 mRNA 表达的影响

抗氧化是生物体免受自由基损伤的一种自我保护机能，抗氧化酶可以增强机体的防御和免疫能力，其活力大小可以反映机体氧化－抗氧化的状况[18]。适当浓度的活性氧含量是机体抵抗某些有害菌、细胞信号传导等许多代谢过程不可缺少的[19]。正常生理情况下机体的营养状况与自由基的含量之间也保持着动态平衡，一旦该平衡遭到破坏，自由基的产生就会增多，造成机体细胞的氧化损伤[20]。MDA 是机体脂质过氧化产物；GSH-Px 可反映出机体清除氧自由基的能力，是机体内抗氧化防御系统的主要组成部分；SOD 是生物机体内产生的一种可以保护细胞膜结构完整和功能健全的酶[21]。CAT 作为一类广泛分布在生物机体的氧化酶，可以促进过氧化氢（H_2O_2）分解，进而起到保护细胞免受自由基损害的作用[22]。T-AOC 作为一个显示生物体抗氧化系统功能状况的综合指标，体现了机体内多种抗氧化酶共同作用的效果[23]。采取增加外源性抗氧化物质或者提高机体产生内源性的抗氧化物质能力的方法，可以削弱自由基对细胞膜的损伤，从而达到有效清除自由基的目的[24]。

目前的很多试验都证明，大多数皂苷具有一定的抗氧化能力[25]。刘宝剑等[26]研究称人参皂苷具有提高抗氧化酶活性，在一定程度上减缓诱导小鼠肺氧化损伤的作用。史莹华等[27]研究称，苜蓿皂苷可显著提升仔猪组织中 GSH-Px 和 SOD 的活性，并能有效降低 MDA 含量。孙延芳等[28]通过体外抗氧化反应发现酸枣果三萜皂苷能够清除二苯基苦基苯肼（DPPH）自由基，具有显著的抗氧化效应。管福琴等[29]研究发现一种五环三萜皂苷类化合物对 DPPH 自由基和羟自由基表现出了很强的清除能力。黄玉珊等[30]研究表明大豆苷元可以诱导大鼠心、脑、肝组织中 *SOD* 的表达，提高机体清除自由基的活性，并显著降低组织中 MDA 的含量。在本试验中，苜蓿皂苷降低了仔猪肝脏、肾脏和脾脏中 MDA 的含量，提高了 T-AOC 和 SOD 活性；苜蓿皂苷组肝脏和肾脏中 GSH-Px 和 CAT 活性显著高于对照组；并且苜蓿皂苷显著提高了断奶仔猪十二指肠和回肠中 *CAT* mRNA 的表达量以及肝脏和空肠中 *GSH-Px* mRNA 的表达量。表明苜蓿皂苷能够增强机体对自由基的清除或削弱自由基的产生能力，提高机体的组织抗氧化能力。

4 结 论

苜蓿皂苷可以提高断奶仔猪生长性能和组织抗氧化能力，调节其肠道微生物区系，促进肠道健康。

参考文献：

[1] 武志敏,耿忠诚,王秀娜,等.甜菜碱和苜蓿皂甙对断奶仔猪生长性能的影响[J].黑龙江八一农垦大学学报,2010,22(3):58–60.

[2] YALINKILIC O,ENGINAR H.Effect of X-radiation on lipid peroxidation and antioxidant systems in rats

treated with saponin-containing compounds[J].Photochemistry and Photobiology,2008,84(1):236–242.
[3] 徐兵.苜蓿皂甙对断奶仔猪的生长性能、消化生理和免疫的影响及机理的研究[D].硕士学位论文.郑州:河南农业大学,2008.
[4] 曹亚男.仔猪日粮中添加紫花苜蓿草粉的增重试验[J].山东畜牧兽医,2008,29(11):8.
[5] 侯永刚,陈辉,黄仁录,等.苜蓿皂甙对蛋鸡生产性能、屠体指标、胆固醇及血清脂质的影响[J].中国畜牧杂志,2009,45(17):30–33.
[6] 王彦华,王成章,高永革,等.苜蓿皂苷对断奶仔猪生产性能、消化率及血液生化指标的影响[J].草业学报,2009,18(5):115–122.
[7] LUPTON J R,JACOBS L R.Fiber supplementation results in expanded proliferative zones in rat gastric mucosa[J].The American Journal of Clinical Nutrition,1987,46(6):980–984.
[8] KASHIWAGURA T,DEUTSCH C J,TAYLOR J,et al.Dependence of gluconeogenesis,urea synthesis,and energy metabolism of hepatocytes on intracellular pH[J].Journal of Biological Chemistry,1984,259(1):237–243.
[9] SARRAZIN E,FRITZSCHE C,BERTSCHINGER H U.Main virulence factors in *Escherichia coli* isolates from swine over two weeks old with edema disease and/or *E. coli* diarrhea][J].Schweizer Archiv für Tierheilkunde,2000,142(11):625–630.
[10] SERVIN A L.Antagonistic activities of *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* against microbial pathogens[J].FEMS Microbiology Reviews,2004,28(4):405–440.
[11] 彭茜,徐荣,殷宁,等.皂荚皂苷与茶皂苷抗菌活性研究[C]//林业生物质化学与工程学术研讨会论文集.南京:中国林学会,2009.
[12] 禹智辉,丁学知,夏立秋,等.藠头总皂苷抗菌活性及其作用机理[J].食品科学,2013,34(15):75–80.
[13] 金秋,奚立民,张昕欣,等.无患子皂苷的抗菌活性研究[J].科技通报,2014,30(3):35–38.
[14] 其买古丽 阿沙木,玛丽亚木 阿矾里米提,米丽班 霍加艾合买提,等.野蔷薇根中总皂苷的提取及其抑菌作用[J].光谱实验室,2013,30(6):3045–3051.
[15] 高清云,沈亮亮,施伟民,等.Bp3 抗耐氟康唑白念珠菌活性研究[J].同济大学学报:医学版,2009,30(1):40–43.
[16] 李波,孙天颖,于鑫洋.苜蓿皂苷的抑菌活性和抗氧化特性的研究[J].食品研究与开发,2013(2):1–2,33.
[17] 武志敏.甜菜碱和苜蓿皂甙对断奶仔猪生长性能及免疫功能的影响[D].硕士学位论文.大庆:黑龙江八一农垦大学,2010.
[18] RUDNEVA I I.Blood antioxidant system of Black Sea elasmobranch and teleosts[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part C:Pharmacology,Toxicology and Endocrinology,1997,118(2):255–260.

[19] MITTAL C K,MURAD F.Activation of guanylate cyclase by superoxide dismutase and hydroxyl radical:a physiological regulator of guanosine 3',5'-monophosphate formation[J].Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,1977,74(10):4360–4364.

[20] 虞泽鹏,乐国伟,施用晖,等.不同锌源对断奶小鼠生长及机体抗氧化能力的影响[J].畜牧与兽医,2005,37(4):1–3.

[21] 刘文斐,刘伟龙,占秀安,等.不同形式蛋氨酸对肉种鸡生产性能、免疫指标及抗氧化功能的影响[J].动物营养学报,2013,25(9):2118–2125.

[22] SOYLU E M,SOYLU S,KURT S.Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*[J].Mycopathologia,2006,161(2):119–128.

[23] 张金龙,徐丽丽,李艳飞.雏鸡脑软化症免疫组织的氧化和抗氧化特性[J].中国畜牧兽医,2007,34(2):42–44.

[24] 张晶晶,石少慧,巴伟松,等.银杏叶提取物对肾急性缺血再灌注损伤家兔抗氧化能力的影响[J].医学研究与教育,2005,22(1):4–5.

[25] SPARG S G,LIGHT M E,VAN STADEN J.Biological activities and distribution of plant saponins[J].Journal of Ethnopharmacology,2004,94(2/3):219–243.

[26] 刘宝剑,王存连,徐明举,等.人参皂苷 Rb1 对 H9N2 流感病毒诱导急性肺损伤小鼠抗氧化酶的影响[J].中国实验动物学报,2014,22(1):11,38–43.

[27] 史莹华,王成章,徐兵,等.苜蓿皂甙对断奶仔猪生长性能和抗氧化性能的影响[J].草地学报,2010,18(5):735–739.

[28] 孙延芳,梁宗锁,刘政,等.酸枣果三萜皂苷抑菌和抗氧化活性的研究[J].食品工业科技,2012,33(6):139–142.

[29] 管福琴,刘敏,单宇,等.灰毡毛忍冬中五环三萜类化合物的抗氧化活性研究[J].时珍国医国药,2013,24(6):1315–1317.

[30] 黄玉珊,曾靖,黄玉萍,等.大豆苷元对大鼠心、脑、肝组织中 SOD 和 MDA 的影响[J].华西药学杂志,2007,22(2):138–139.

Effects of Alfalfa Saponin on Growth Performance, Intestinal Microflora, Antioxidant Ability and Related Enzyme mRNA Expression in Tissues of Weaned Piglets

WANG Wenjing LIU Boshuai CHEN Yaopeng SUN Xiao XIAO Junnan LIN Jinxiang WANG Chengzhang SHI Yinghua*

(*College of Animal Science and Veterinary Medicine*, *Henan Agricultural University*, *Zhengzhou* 450002, *China*)

Abstract: The experiment was conducted to study to the effects of alfalfa saponin on growth performance, intestinal microflora, antioxidant ability and related enzyme mRNA expression in tissues of weaned piglets. A total of 24 crossed-bred (Landrace×Large White) piglets with an average body weight of 8 kg were randomly assigned to 2 groups with 3 replicates each and 4 piglets in each replicate. The piglets in control group were fed a basal diet, and in alfalfa saponin group were fed the basal diet supplemented with 0.25% alfalfa saponin. The experiment lasted for 30 days after 10 days pre-experiment. The results showed as follows: 1) compared with control group, dietary alfalfa saponin significantly increased average daily gain (P<0.05) and significantly decreased the ratio of feed to gain (P<0.05) of weaned piglets. 2) Compared with control group, dietary alfalfa saponin significantly reduced pH in duodenum and cecum (P<0.05), significantly increased the numbers of *Lactobacillus* in duodenum, jejunum and cecum (P<0.05) of piglets. 3) Compared with control group, dietary alfalfa saponin significantly increased the activity of glutathion peroxidase (GSH-Px) and catalase (CAT) in liver and kidney (P<0.05), and significantly improved the mRNA expression level of *GSH-Px* in liver and jejunum as well as the mRNA expression level of *CAT* in duodenum and ileum (P<0.05) of piglets. In summary, dietary alfalfa saponin can enhance growth performance of weaned piglets, improve antioxidant ability in tissues and have a good benefit on intestinal microflora.

Key words: alfalfa saponin; weaned piglet; growth performance; intestinal microflora; antioxidant ability; mRNA expression level

---